

**DIE GEFÄSSVERSORGUNG IN DEN FUNGIFORMEN PAPILLEN BEI
DER ERDKRÖTE, BUFO BUFO (L.). EINE LICHT-, RASTER- UND
TRANSMISSIONSELEKTRONENMIKROSKOPISCHE
UNTERSUCHUNG 1)**

**The vascularization of the fungiform papillae in the toad, *Bufo bufo* (L.).
A light, scanning and transmission electron microscopical study**

von

Hubert SAGMEISTER, Alois LAMETSCHWANDTNER und
Peter SIMONSBERGER 2)

Aus dem Zoologischen Institut der Universität Salzburg
(Vorstand: Univ. Prof. Dr. Hans Adam)

Zusammenfassung

Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen an der Zunge der Erdkröte, *Bufo bufo* (L.) zeigen, daß die fungiformen Papillen über eine Gefäßschleife versorgt werden. Der Durchmesser der aufsteigenden Gefäßschleife liegt zwischen 13 - 15 μm ; der apikale Umschlagbereich der Gefäßschleife beträgt 30 - 50 μm . An lichtmikroskopischen Schnitten erkennt man, daß diese Gefäße bis dicht an die Geschmacksknospe heranziehen. Die Länge der Gefäße von ihrem Ursprung bis zu ihrem Umschlagbereich beträgt etwa 200 μm , der Abstand zwischen den Gefäßen zueinander ca. 137 μm . Transmissionselektronenmikroskopische Befunde zeigen, daß das Endothel der Gefäße zahlreiche Poren und stellenweise fingerförmige Vorstülpungen in das Gefäßlumen aufweist.

Summary

Scanning electron microscopic investigations of the tongue of the toad *Bufo bufo* (L.) show, that the Fungiform Papillae are supplied by blood vessels. The ascending portion of the vessels is about 13 - 15 μm in diameter, the apical loop is about 30 - 50 μm in diameter. On light microscopical sections it can be observed, that these vessels

-
- 1) Diese Arbeit wurde durch den Fonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung und der Stiftungs- und Förderungsgesellschaft der Paris-Lodron-Universität Salzburg unterstützt.
 - 2) Anschrift der Verfasser: Zoologisches Institut der Universität Salzburg, Akademiestraße 26, 5020 Salzburg.

reach the taste buds of the Fungiform Papillae. The length of the vessels between their origin and the apical loop is 200 μm . The distance between the vessels is 137 μm . Ultrathin sections, viewed with the Transmission electron microscope show numerous pores in the endothelium of the vessels and sometimes fingerlike protrusions extending into the vessel lumen can be seen.

Einleitung

Allein bei den Säugern gibt es zahlreiche Beschreibungen der fungiformen Papillen und der Geschmacksknospen (OPPEL, 1900; HEIDENHAIN, 1914; DE LORENZO, 1958; ERBENGI und FERNER, 1964; BARADI, 1965; BEIDLER und SMALLMAN, 1965; MURRAY und MURRAY, 1966/1970; SCALZI, 1967; GEERDINK und DRUKKER, 1973; und andere). Die Geschmackorgane bei Fischen wurden von LUKOWICZ (1965), WELSCH und STORCH (1969) und GROOVER-JOHNSON u.a. (1976) beschrieben. ECKER (1882), OPPEL (1900), FÄHRMANN u.a. (1965), HAMMERMANN (1969), STENSAAS (1971), GRAZIADEI und DE HAN (1971), DE HAN und GRAZIADEI (1973) und DÜRING und ANDRES (1976) beschrieben die Geschmacksknospen bei Amphibien. Mit der Innervation der Papillen beschäftigten sich unter anderen RAPUZZI und CASELLA (1965) und SATO (1972).

Alle oben genannten Autoren verzichten auf eine genaue Beschreibung der Gefäßversorgung in den fungiformen Papillen. Einige Autoren, wie OPPEL (1900), erwähnten Gefäße, ohne jedoch ihren räumlichen Verlauf darzustellen. Ziel der vorliegenden Untersuchung ist es, mit Hilfe der Rasterelektronenmikroskopie an Korrosionspräparaten die Gefäßversorgung der fungiformen Papillen darzustellen. Eine genaue Beschreibung der Ultrastruktur der Geschmacksknospen und der sie versorgenden Gefäße ist Gegenstand weiterer Arbeiten.

Material und Methoden

Untersucht wurden männliche Adulttiere der Erdkröte, *Bufo bufo* (L.).

1. Lichtmikroskopische Methoden: 7 μm Schnitte

Die Tiere wurden mit MS 222 betäubt. Die anschließende Freipräparierung der Arteria carotis communis erfolgte nach der von LAMTSCHWANDTNER (1976) und LAMETSCHWANDTNER u.a. (1976) beschriebenen Methode. Danach wurde über die Arteria carotis communis der gesamte Kopfbereich mit Amphibienringer gespült, mit Bouin ca. 10 Minuten perfusionsfixiert, die Zunge extirpiert und 24 Stunden in Bouin immersionsfixiert. Anschließend folgte die Entwässerung über die Isopropanolreihe, Methylbenzoat, Benzol und das Einbetten in Paraplast. Die Schnitte wurden mit AZAN nach HEIDENHAIN gefärbt.

2. Semidünnschnitte: 1 μm

Die Präparation der Objekte für Semidünnschnitte wird in Punkt 4 beschrieben. Die Färbung der Semidünnschnitte erfolgte mit AZUR II.

3. Rasterelektronenmikroskopie: (REM)

a) Methoden zur Oberflächendarstellung:

Die Tiere wurden dekapiert und die entnommenen Zungen in einer Permeaselösung (Hyaluronidase; 400 i. E. in 50 ml Cacodylatpuffer, pH 7,2 bei Zimmertem-

peratur) inkubiert, um den auf der Zunge liegenden Schleim zu entfernen. Es folgt die Fixierung der Präparate in cacodylatgepufferten 2,5%igen Glutaraldehyd (2 Stunden), die Entwässerung über die Äthanolreihe, Azeton, Azeton - Frigen (1 - 1), reines Frigen 11 und die Kritische Punkttrocknung. Die getrockneten Präparate wurden auf Aluminiumnieten aufgebracht, mit Gold besputtert und bei einer Beschleunigungsspannung von 30 kV im REM (STEREOSCAN MARK IIa, Cambridge) untersucht.

b) Methoden zur Gefäßdarstellung:

Wir stellten die Korrosionspräparate nach den Methoden von MURAKAMI (1971), LAMETSCHWANDTNER (1976) und LAMETSCHWANDTNER u.a. (1976) her.

Die mit Gold besputterten Präparate untersuchten wir im REM bei einer Beschleunigungsspannung von 5 kV

4. Transmissionselektronenmikroskopie: (TEM)

Für die TEM - Untersuchungen haben wir die Tiere, wie unter Punkt 1 beschrieben, für die Perfusionsfixierung vorbereitet. Als Fixierungsmittel diente 2,5 %iger Glutaraldehyd, gepuffert in 0,05 M Na - Cacodylatpuffer, pH 7,2. Nach der Perfusionsfixierung wurden die Zungen in derselben Fixierlösung 15 Minuten immersionsfixiert, dann in kleine Stücke geschnitten und für weitere 2 Stunden bei + 4 Grad Celsius fixiert. Nach dem Waschen der Präparate (1 Stunde in Pufferlösung) folgte die Nachfixierung in gepufferten OsO₄ bei + 4 Grad Celsius (1 Stunde), um wiederum in der Pufferlösung zu waschen. Als Einbettungsmittel verwendeten wir Epon 812, zur Kontrastierung der Ultradünnschnitte (geschnitten auf einem OmU 3 REICHERT, Wien) Uranylazetat und Bleizitrat. Die Schnitte wurden auf einem PHILIPS EM 300 untersucht.

Ergebnisse

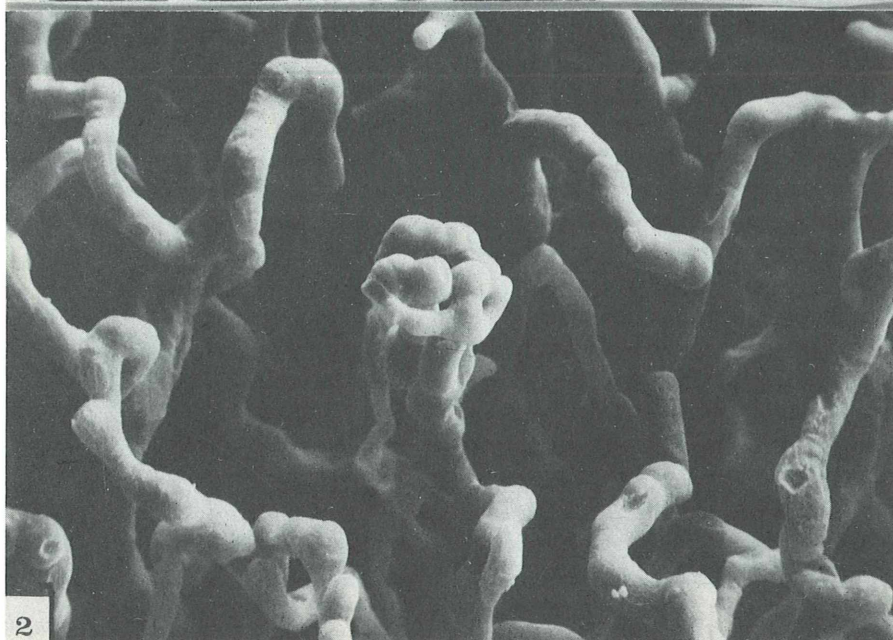
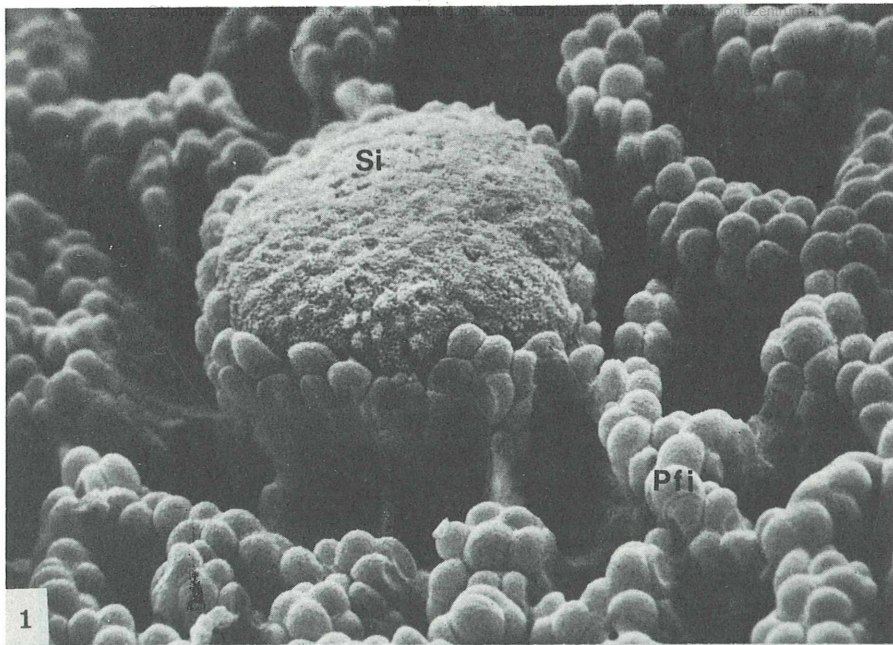
Die Zunge der Erdkröte *Bufo bufo* (L.) wird von einigen hundertten fungiformen Papillen bedeckt. Diese Papillen weisen einen Durchmesser von ca. 75 Mikrometer auf und erreichen eine durchschnittliche Höhe von 55 μm . Apikal tragen die Papillen ein Sinnesfeld, das durch einen Mikrovillisaum gekennzeichnet ist. Seitlich werden die Papillen durch ein einschichtiges Epithel begrenzt. Zwischen den Epithelzellen und den angrenzenden filiformen Papillen münden zahlreiche Zungendrüsen aus. Die filiformen Papillen tragen bei *Bufo bufo* (L.) keine Sinnesfelder (Abb. 1). Jede fungiforme Papille wird von einer über den Papillenhals einziehenden Gefäßschleife versorgt (Abb. 2). Der Durchmesser des aufsteigenden Schenkels einer Schleife beträgt zwischen 13 - 15 μm . Gelegentlich können aber auch kleinere bzw. größere Gefäßquerschnitte gefunden werden. Die beiden papillenversorgenden Gefäßschenkel ziehen bis dicht an die Geschmacksknospe heran (Abb. 3, 5). Im einfachsten Fall vereinigen sich die beiden Gefäßschenkel zu einer einfachen Gefäßschleife (Abb. 4). Meist teilt sich jedoch ein aufsteigender Schenkel, sodaß ein komplizierterer Gefäßverlauf in der apikalen Gefäßregion zu beobachten ist (Abb. 6, 7). 150 solcher apikaler Gefäßbereiche wurden an Korrosionspräparaten vermessen. Ihr Durchmesser liegt zwischen 30 und 50 μm . Die Höhe der aufsteigenden Gefäße bis zu ihren Umschlagbereich beträgt etwa 200 μm (Abb. 8). Welcher der beiden aufsteigenden Gefäßschenkel den afferenten bzw. den efferenten Teil darstellt, geht aus die-

sen Untersuchungen aus Methodischen Gründen nicht hervor. Die Abstände der Gefäße, die die fungiformen Papillen versorgen, liegen bei $137\ \mu\text{m}$ (Abb. 9).

Transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, daß das Endothel der papillenversorgenden Kapillargefäße stellenweise Poren (Abb. 10, Pfeile) und fingerförmige Vorstülpungen in das Gefäßlumen aufweist (Abb. 11). Im perinuclearen Bereich finden sich zahlreiche Filamentbündel und einzelne Mitochondrien (Abb. 12). Ferner kann man zahlreiche helle Vesikel im Cytoplasma finden, die sich sowohl in den perivaskulären Raum, als auch in das Gefäßlumen hinein entleeren (Abb. 13).

Diskussion

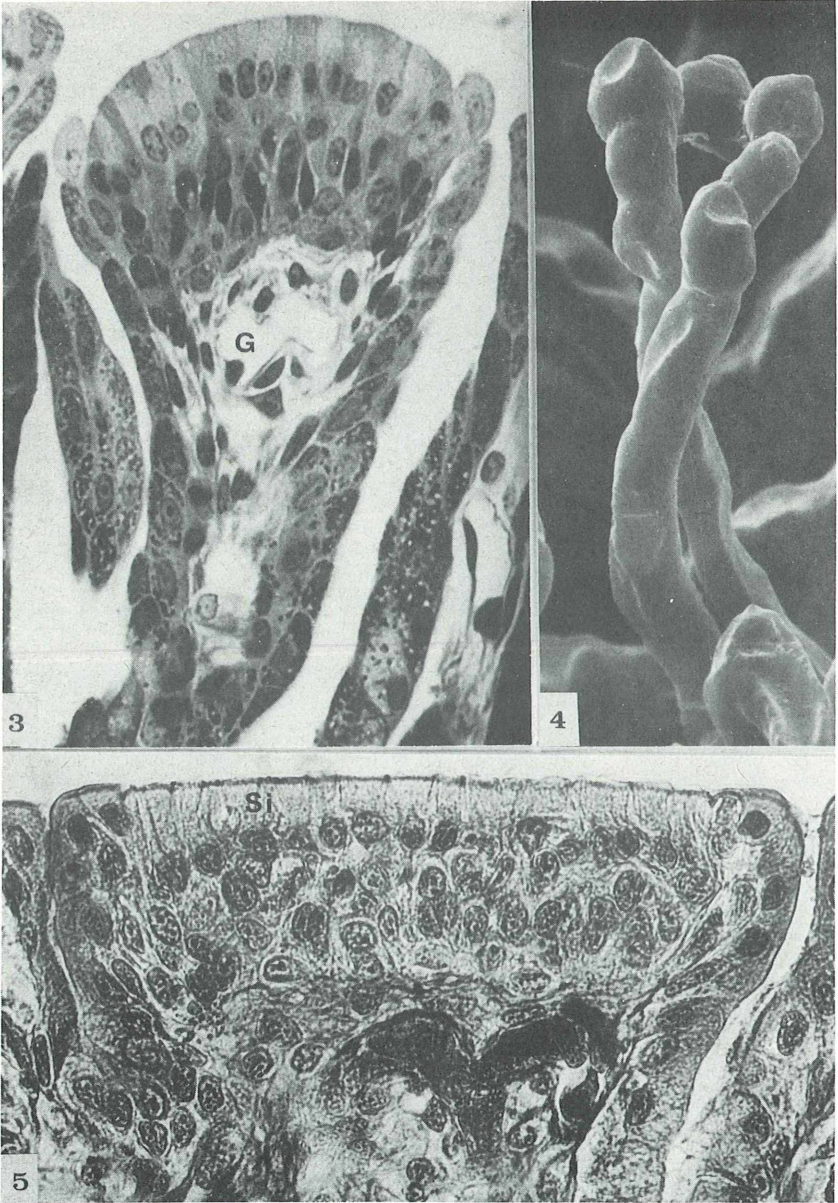
Die bisherigen Methoden zur Gefäßdarstellung (Tusche injizierte Präparate, Rekonstruktionen von Serienschnitten u.a.) stellen relativ aufwendige Verfahren dar. Um den Gefäßverlauf in den fungiformen Papillen bei *Bufo bufo* (L.) darzustellen, wurden lichthistologische Schnittserien ausgewertet. Erst die Kombination des Rasterelektronenmikroskopes und von Korrosionspräparaten gewährte auf einfachen Weg einen Einblick in den räumlichen Verlauf der Gefäße. Die apikalen Aufzweigungen und Schlaufenbildungen der Gefäße scheinen einer Oberflächenvergrößerung zu dienen. TEM-Untersuchungen zeigen, daß in diesem Bereich ein beträchtlicher Stoffwechselumsatz stattfinden muß, der durch die hohe Aktivität der einzelnen Zellarten in den Geschmacksknospen und durch deren laufende Erneuerung erklärt werden kann (FÄHRMANN u.a. 1965, FRIEDMANN 1973). Eine Respiratorische Funktion der Gefäße, wie dies im Mundhöhlenboden und im Gaumen der Fall ist, kann im apikalen Bereich ausgeschlossen werden.



Bildtafel 1

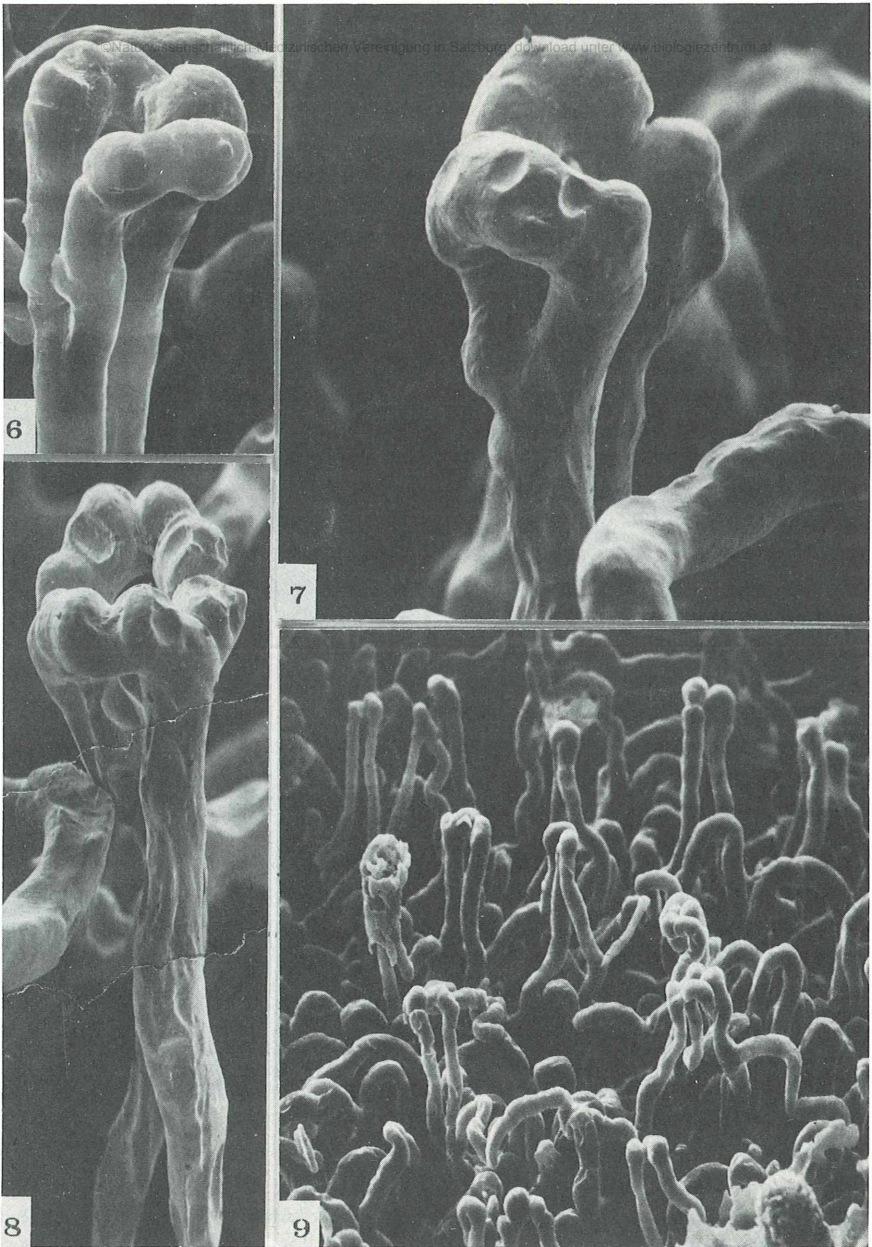
Abb. 1: Fungiforme Papille mit Sinnesfeld (Si). Seitlich davon zahlreiche filiforme Papillen (Pfi). Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme, 1080 : 1

Abb. 2: Papillenversorgendes Gefäß. Korrosionspräparat, 960 : 1



Bildtafel 2

- Abb. 3: Fungiforme Papille mit angeschnittenem Gefäß (G). Semidünnschnitt $1\ \mu\text{m}$, AZUR II, 720 : 1
- Abb. 4: Einfache Gefäßschleife einer fungiformen Papille. Korrosionspräparat, 850 : 1
- Abb. 5: Fungiforme Papille mit Sinnesfeld (Si) und apikalen Gefäßanschnitt. Paraffinschnitt $7\ \mu\text{m}$, AZAN nach Heidenhain, 760 : 1



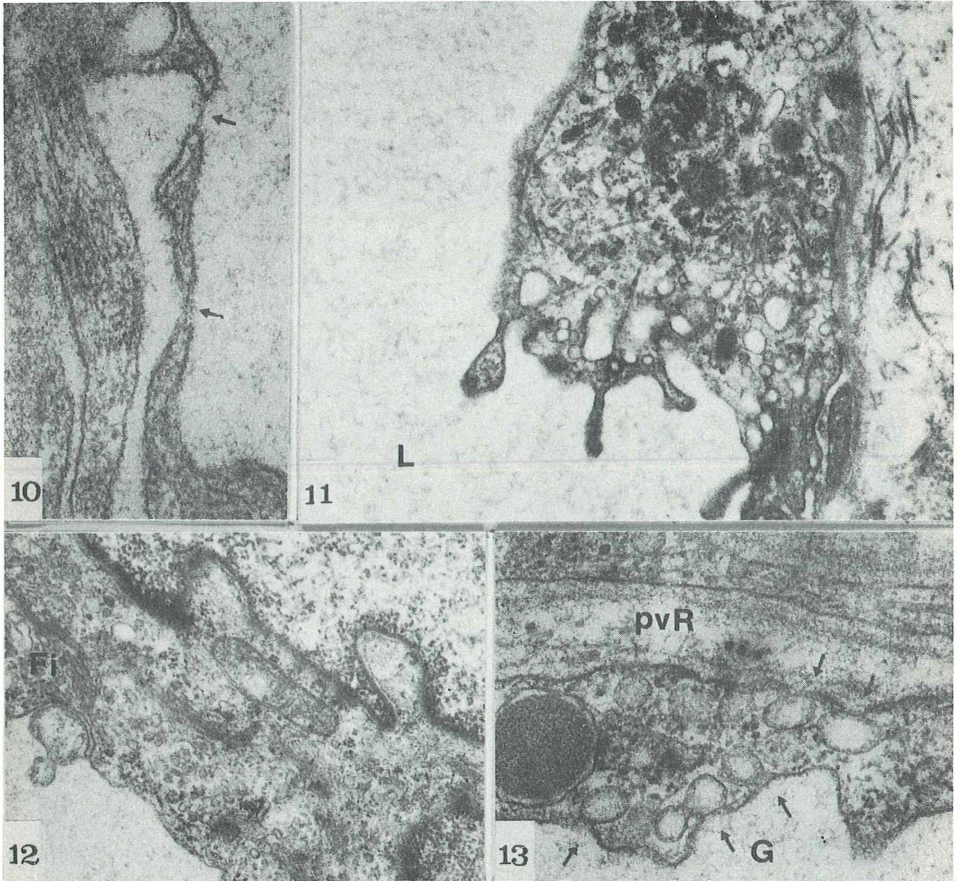
Bildtafel 3

Abb. 6: Apikaler Bereich einer Kapillarschleife. Korrosionspräparat, 650 : 1

Abb. 7: Wie Abb. 6. Beachten Sie die verschiedenen Ausbildungen der apikalen Gefäßregion. Korrosionspräparat, 660 : 1

Abb. 8: Kapillarschleife gesamt. Korrosionspräparat, 500 : 1

Abb. 9: Detail aus der Zunge mit verschiedenen Kapillarschleifen. Korrosionspräparat, 154 : 1



Bildtafel 4

- Abb. 10: Endothel mit Poren (Pfeile). Epon 812, Uranylazetat und Bleizitrat, 138000 : 1
Abb. 11: Fingerförmige Vorstülpungen des Endethels in das Gefäßlumen (L). Epon 812, Uranylazetat und Bleizitrat, 42500 : 1
Abb. 12: Kernnaher Bereich einer Endothelzelle mit zahlreichen Filamenten (Fi). Epon 812, Uranylazetat und Bleizitrat, 71300 : 1
Abb. 13: Detail aus einer Endothelzelle zeigt helle Vesikel (Pfeile), die sich in das Gefäßlumen (G) und den perivaskulären Raum (pvR) entleeren. Epon 812, Uranylazetat und Bleizitrat, 83100 : 1

- BARADI, A.F.: Intragemmal spaces in the taste buds. *Z. Zellf. mikr. Anat.* **65**, 313 (1965)
- BEIDLER, L.M., SMALLMAN, R.L.: Renewal of cells within the taste buds. *J. Cell. Biol.* **27**, 263 (1965)
- DE HAN, R.S., GRAZIADEI, P.P.C.: The innervation of frog's taste organs. A histochemical study. *Life Sci.* **13**, 1435 - 1449 (1973)
- DE LORENZO, A.J.: Electron microscopic observations on the taste bud of the rabbit. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* **4**, 143 - 150 (1958)
- DÜRING, M. von, ANDRES, K.H.: The ultrastructure of taste and touch receptors of the frog's taste organs. *Cell. Tiss. Res.* **165**, 185 - 198 (1976)
- ECKER, A.: Die Anatomie des Frosches. 1 - 3 Abteilung. Druck und Verlag von Friedrich Vieweg und Sohn. Braunschweig 1882.
- ERBENGI, T., FERNER, H.: Histochemische Untersuchungen der Geschmacksknospen des Kaninchens. *Z. Zellf. mikr. Anat.* **1**, 673 (1964).
- FÄHRMANN, W., HOFFMANN, G., SCHUCHARDT, E.: Die Zellen der Geschmacksknospen und der Zellersatz. *Naturwissenschaft.* **52**, 438 (1965)
- FRIEDMANN, I.: The ultrastructure of sensory organs. North-Holland Publishing Company 1973
- GEERDING, H.G., DRUKKER, J.: Uptake of L-Dopa by cells in the taste buds of the vallate papilla of the mouse. *Histochemie.* **36**, 219 (1973)
- GRAZIADEI, P.P.C., DE HAN, R.S.: Fine structure of the frog's taste organ. *Acta Anat.* **80**, 563 - 603 (1971)
- GROOVER-JOHNSON, N., FARBMANN, A.I.: Fine structure of taste buds in the barbel of the catfish, *Ictalurus punctatus*. *Cell. Tiss. Res.* **169**, 395 - 403 (1976)
- HAMMERMAN, D.L.: The frog tongue: I. General development and histogenesis of filiform papilla and mucous glands in *Rana catesbeiana*. *Acta Zoologica.* **50**, 11 - 23 (1969)
- HEIDENHAIN, M.: Über die Geschmacksknospen der Papilla foliata des Kaninchens. *Arch. mikr. Anat.* **85**, 365 - 479 (1914)
- LAMETSCHWANDTNER, A.: Die Vaskularisation des Zwischenhirn-Hypophysensystems von *B. Bufo* (L.). Eine licht- und rasterelektronenmikroskopische Untersuchung. Dissertation. Salzburg, 1976
- LAMETSCHWANDTNER, A., SIMONSBERGER, P., ADAM, H.: Scanning electron microscopic studies of corrosion casts. The vascularization of the paraventricular organ (organ vasculosum hypothalami) of the toad *B. Bufo* (L.). *Mikroskopie.* in Druck (1976)
- LUKOWICZ, M. von: Über die Barteln und die Lippenepidermis verschiedener ägyptischer Süßwasserfische mit einigen Versuchen zum Geschmackssinn. *Zool. Anz.* **176**, 396 - 419 (1966)
- MURAKAMI, T.: Application of the scanning microscope to the study of the fine distribution of the blood vessels. *Arch. Hist. Jap.* **35**, 323 - 326 (1971)
- MURRAY, R.G., MURRAY, A.: Fine structure of rabbit taste buds. *Electr. Micr.* **2**, 485 - 486 (1966)
- MURRAY, R.G., MURRAY, A.: The anatomy and ultrastructure of taste endings. *Ciba Foundation Symposium on Taste and Smell in Vertebrates.* Eds.: Walstenholme, G.E., Knight, J. pp. 3 - 30. Publishing House: J. and A. Churchill, London 1970

- OPPEL, A.: **Lehrbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Wirbeltiere.**
3. Teil: Mundhöhle, Bauchspeicheldrüse, Leber. Gustav Fischer Verlag, Jena 1900
- RAPUZZI, G., CASELLA, C.: Innervation of the fungiform papilla in the frog tongue. *J. Neurophysiol.* **28**, 154-165 (1965)
- SATO, T.: Multiple sensitivity of single taste cells in the frog tongue to four basic taste stimuli. *J. Cell. Physiol.* **80**, 207-218 (1972)
- SCALZI, H.A.: The cytoarchitecture of gustatory receptors from the rabbit foliate papilla. *Z. Zellf.* **80**, 413-435 (1967)
- STENNSAAS, L.J.: The fine structure of the fungiform papilla and epithelium of the tongue of a South American Toad (*Calyptocephalella gay*). *Am. J. Anat.* **141**, 433-461 (1971)
- WELSCH, U., STORCH, U.: Die Feinstruktur der Geschmacksknospen von Welsen. *Z. Zellf.* **100**, 552-559 (1969)

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg](#)

Jahr/Year: 1976

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Sagmeister Hubert, Lametschwandtner Alois, Simonsberger Peter

Artikel/Article: [DIE GEFÄSSVERSORGUNG IN DEN FUNGIFORMEN PAPILLEN BEI DER ERDKRÖTE, BUFO BUFO \(L.\). EINE LICHT-, RASTER- UND TRANSMISSIONSELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNG. 75-84](#)